Der Nucleotidgehalt des Rattengehirns nach Röntgenbestrahlung unter dem Einfluß zentralwirksamer Substanzen

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Hans-Jakob MASSON

Saarbrücken

1973

AUS DER ABTEILUNG FÜR NEUROCHEMIE
Vorsteher: Professor Dr. med. K. KANIG
DER NERVENKLINIK DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES,
HOMBURG/SAAR
Direktor: Professor Dr. med. H.-H. MEYER

Der Nucleotidgehalt des Rattengehirns nach Röntgenbestrahlung unter dem Einfluß zentralwirksamer Substanzen

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1 9 7 2

vorgelegt von
Hans-Jakob MASSON
geb. am 22.2.1948 in Neunkirchen/Saar

Dekan: Professor Dr. H. KULENKAMPFF
Referent: Professor Dr. K. KANIG

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Prüfung wurde am 16. Januar 1973 abgelegt

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	3
B. METHODIK	5
I. Tiermaterial	5
II. Bestrahlung	6
III. Substanzen	7
IV. Gewebegewinnung und -extraktion	10
V. Trennung der Nucleotide	12
VI. Berechnungen	15
C. VERSUCHSERGEBNISSE	18
D. DISKUSSION	30
E. ZUSAMMENFASSUNG	42
F. LITERATURVERZEICHNIS	45

A. EINLEITUNG

Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit sind die Ergebnisse von LEHBERGER (1971), der u.a. eine Schutzwirkung des zentralerregenden Harmins gegenüber einer Röntgenbestrahlung des Rattengehirns gefunden hatte. Die Schutzwirkung war an der Hemmung des strahlenbedingten Konzentrationsabfalls der freien Nucleotide erkannt worden. Als Erklärungsmöglichkeiten für diesen Effekt diskutiert LEHBERGER die Eigenschaften des Harmins als Monoaminoxydasehemmer oder als stoffwechselsteigernde Substanz sowie die chemische Struktur des Harmins selbst.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es zu untersuchen, welche der genannten Erklärungsmöglichkeiten am ehesten in Frage kommt. Um den Einfluß der Stoffwechselsteigerung zu prüfen, verwendeten wir zwei zentralerregende Substanzen, Pentetrazol (Cardiazol^{R}) und Nikethamid (Coramin^{R}). Als Strukturverwandte des Harmins wurden Harman und Harmalol benutzt. Von allen diesen Substanzen ist eine Hemmwirkung auf die Monoaminoxydase nicht bekannt.

Da nur der Einfluß der verschiedenen Substanzen auf den Strahleneffekt verglichen werden sollte, wurden alle Versuche mit der gleichen Strahlendosis von 3000 R auf das Rattengehirn ausgeführt. Bis auf zwei

Ausnahmen wurden die Tiere in allen Versuchen 48 Stunden nach der Bestrahlung dekapitiert, da nach LEHBERGER zu diesem Zeitpunkt für bestimmte Nucleotide ein Maximum des Strahleneffekts erreicht worden war. Für die Bestimmung der freien Nucleotide benutzten wir, wie LEHBERGER auch, die Ionenaustausch-Chromatographie.

B. METHODIK

Da die Methodik dieser Arbeit im wesentlichen Teil übereinstimmend ist mit den Methoden der Arbeiten von BRÜSTLE (1969) u. LEHBERGER (1971), werden hier nur Angaben gemacht, die zum Verständnis nötig sind.

I. Tiermaterial

Für alle unsere Versuche wurden weibliche Albinoratten des Inzuchtstammes "Wistar AF/Han" (Zentralanstalt für Versuchstierzucht, Hannover) benutzt, die mit Altromin^{R} der Firma "altromin GMBH Lage/Lippe" gefüttert worden waren. Nach den von LEHBERGER (1971) gefundenen evidenten Unterschieden im Nucleotidgehalt zwischen bestrahlten und unbestrahlten Gehirnen jüngerer Ratten (50 - 60 Tage alt, 150 $\pm$ 10 g Körpergewicht) war zu erwarten, daß sich auch bei älteren Tieren noch Unterschiede zeigen würden. Es wurden daher in den ersten 15 Versuchen ältere Tiere (190 $\pm$ 20 g KG) benutzt. Dabei wurde bedacht, daß bereits ein signifikanter Unterschied im Nucleotidgehalt der Gehirne verschieden alter, erwachsener Ratten besteht (KANIG u. KORANSKY, 1961). Erst in den übrigen 36 Versuchen wurden

jüngere Tiere mit einem Gewicht von 150 ± 10 g verwendet, da sich mit den älteren Tieren die Ergebnisse von LEHBERGER (1971) in den meisten Punkten nicht reproduzieren ließen.

II. Bestrahlung

In der Radiologischen Universitätsklinik Homburg/Saar+) erfolgte die Bestrahlung an einem Siemens-Pendelgerät von Kohler mit der Siemenstherapie-Röntgenröhre (X-RAY-TUBE), die zur Zeit der Versuche nach der Messung der Firma Pychlau (Freiburg) eine Dosisleistung von 256 R pro Minute erbrachte. Die Versuche erfolgten bei der Einstellung des Gerätes auf 2o mA, 200 KV und o,5 mm Cu-Filter. Außerdem wurde ein Rundglastubus mit einem Innendurchmesser von 2 cm benutzt, der direkt über den Kopf der Ratte gebracht wurde, so daß der Fokus-Rattenkopf-Abstand 27 cm betrug. Um den übrigen Körper der Ratte vor Strahlungen zu schützen, verwendeten

+) Herrn Professor Dr. F. Sommer bin ich für die Erlaubnis, in seiner Klinik die Bestrahlungen vornehmen zu können, sehr zu Dank verpflichtet. Seinem Mitarbeiter, Herrn Dr. H.J. Schmidt-Hermes danke ich ebenfalls für die Beratung und Anleitung bei der Durchführung der Bestrahlung.

wir eine Bleikammer mit einem Bleideckel, aus der nur der Kopf des Tieres herausschaute. Die Größe des Loches in diesem Deckel war durch einen Schieber verstellbar, so daß der Rattenkopf fixiert werden konnte. Um eine Dosis von 3 ooo R zu erreichen, mußten die Köpfe 11 min und 42 sec lang bestrahlt werden.

III. Substanzen

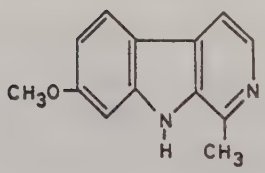
Wie in der Einleitung schon gesagt, wurden vier Substanzen benutzt, um die Schutzwirkung von Harmin zu ergründen: Pentetrazol, Nikethamid, Harman und Harmalol (s. Abb. 1). Alle Substanzen wurden ungefähr zehn Minuten vor der Bestrahlung intraperitoneal (i.p.) appliziert.

In Versuch I verwendeten wir 40 mg Pentetrazol pro kg KG und in Versuch II 130 mg Nikethamid pro kg KG. In vorhergehenden Untersuchungen war ermittelt worden, daß diese Dosen gerade unterhalb der Krampfschwelle lagen. Als in den darauffolgenden Versuchen dennoch einige Tiere krampften (diese Tiere wurden nicht weiter verwendet), gingen wir in Versuch III auf eine Dosis von 30 mg Pentetrazol und 100 mg Nikethamid pro kg KG zurück.

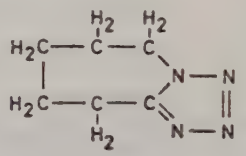
Die unterschwellige Krampfdosis betrug für Harman 20 mg/kg KG. Bei Versuchen mit Harmalol stellte sich heraus, daß dieses Derivat im Gegensatz zu Harmin (30 mg/kg KG) und Harman auch in weitaus stärkerer Dosis keine Krämpfe erzeugt. Die Ratten zeigten bei einer Menge von 90 mg Harmalol pro kg KG zwar eine eindeutige Veränderung gegenüber dem Normalverhalten - man könnte es rein äußerlich mit einem ängstlichen Zusammenkauern beschreiben -, jedoch jegliche Krampfaktion fehlte. Wir wählten für Harmalol eine Dosis von 45 mg/kg KG, um nicht allzusehr von der Harmindosis abzuweichen.

Als alle bisher beschriebenen Versuche - jede Versuchsreihe außer mit Harmalol enthielt zur Kontrolle einen Versuch mit nur bestrahlten (n.b.) Tieren - nicht zu den erwarteten Unterschieden führten, wiederholten wir die Versuche LEHBERGER'S mit Pentobarbital (Nembutal^{R}, Abb.1), da in diesen Versuchen bei 3000 R die größten Abweichungen im Nucleotidgehalt im Vergleich zu unbehandelten Tieren festgestellt worden waren. Als Dosis verwendeten wir 50 mg Pentobarbital pro kg KG (i.p.), und wir führten die Bestrahlung ungefähr 10 Minuten nach Seitenlage der Tiere aus. Um Klarheit über den Einfluß der Manifestations-

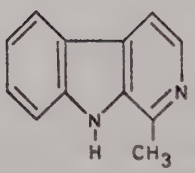
zeit (Dauer zwischen Bestrahlung und Dekapitation) zu gewinnen, variierten wir die Zeit von 48 h, in der von LEHBERGER (1971) ein Maximum der Strahlenwirkung gefunden worden war, in je zwei Versuchsreihen mit Pentobarbital auf 12 und 96 Stunden.



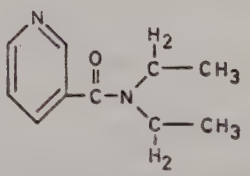
HARMIN



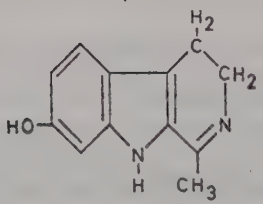
PENTETRAZOL (CARDIAZOL^{R})



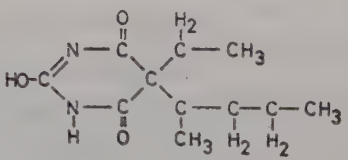
HARMAN



NIKETHAMID (CORAMIN^{R})



HARMALOL



PENTOBARBITAL (NEMBUTAL^{R})

Abb. 1: Strukturformeln der verwendeten Substanzen

IV. Gewebegewinnung und -extraktion

In der vorliegenden Arbeit wurde wie in den beiden schon erwähnten folgende Methode angewandt: Um den Verbrauch der energiereichen Substanzen während der Dekapitation zu hemmen, wurden in allen Versuchen die Tiere mit 50 mg/kg KG Pentobarbital i.p. narkotisiert und 10 min nach Seitenlage mit einem Hebelmesser dekapitiert. In das Foramen occipitale magnum wurde mit einer Schere eingegangen und die Schädelkalotte aufgeschnitten. Das Gehirn wurde zur Fixierung in einen Behälter mit flüssigem Stickstoff gebracht. Dieser Arbeitsgang muß sehr schnell ausgeführt werden, da erst bei einer Temperatur von unter 0° C die Stoffwechselprozesse sicher gestoppt werden. Bei allen Versuchen nahm dieser Vorgang zwischen 10 und 15 sec in Anspruch.

Die Gehirne werden dann grob zermörsert und im Ultraturrax mit 0,5 n Perchlorsäure homogenisiert. Beides geschieht bei einer Temperatur unter 0° C. Da die Säure nicht nur zur Lösung der Nucleotide dient, sondern auch Lipoide und

Eiweißkörper fällt, muß das Homogenat danach 45 min lang in einer vorgekühlten Zentrifuge bei 20 000 g abzentrifugiert werden. In den ersten 27 Versuchen verwandten wir wie LEHBERGER (1971) pro g Rattengehirn (=Frischgewicht) 2,5 ml 0,5 n $HClO_4$ und in den übrigen Versuchen, wie es in der Arbeit von KANIG (1963) auch angegeben war, 5 ml pro Hirn. In diesen Versuchen lagen die Gesamtsummen der Nucleotide rund 10% höher als in den ersten. Zu dem Überstand aus der Zentrifugation wird bei einer Temperatur unter 0° C bis zu einem pH von 7-8 5 n KOH hinzugefügt. Dabei fällt unlösliches $KClO_4$ aus. Ein exakter pH-Wert von 7-8 ist wichtig, da unterhalb von pH 5 die Triphosphate gespalten werden und überhalb von pH 9 NAD zerfällt (KANIG, 1963). Das Kaliumperchlorat wird bei 3000 U/min abzentrifugiert. Der Extrakt kann nun auf die Säulen für die Ionenaustauschchromatographie gegeben werden. Der Extraktionsrückstand aus der ersten Zentrifugation (=Feuchtrückstand) wird bei 65° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet (=Trockenrückstand).

V. Trennung der Nucleotide

Für die Auftrennung der Nucleotide wird ein Verfahren von HURLBERT et al. (1954), das von KORANSKY (1958), KANIG u. KORANSKY (1961) und von KANIG (1963) verbessert würde, benutzt. Es erlaubt eine reproduzierbare Trennung von 22 Nucleotidfraktionen. Da in der vorliegenden Arbeit Korngröße und Vernetzungsgrad unterschiedlich zu dem angegebenen Verfahren sind, mußte auch der Zeitpunkt der Umsetzung des Elutionsmittels von 4 n HCOOH auf 0,2 n NH_4COOH in 4 n HCOOH geändert werden; und zwar fällt die Umsetzung in den Abstieg des ADP-Gipfels (s. Abb. 2). Die Elutionsmittel werden mit einer Schlauchpumpe direkt in das Mischgefäß gepumpt.

Als Ionenaustauscher verwandten wir den aus der Chlorid-Form in die Formiat-Form umgeladenen Dowex 1x8, 100-200 mesh. Leider stimmten bei den ersten 15 Versuchen die von der Lieferfirma angegebenen Qualitätsmerkmale des Austauschers nicht, so daß in diesen Versuchen keine so gute Auftrennung wie in den restlichen, nachdem wir endlich eine brauchbare Charge erhalten hatten, erzielt werden konnte. Daher

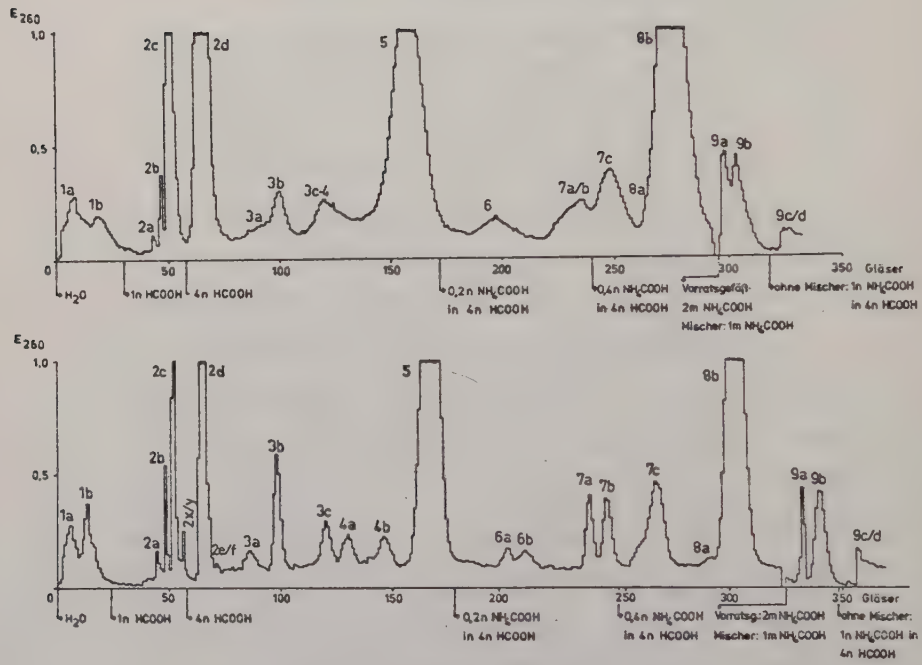


Abb. 2: Ionenaustauschchromatogramme von nur bestrahlten Rattengehirnen mit einer guten (unterer Teil; Versuchsreihe VI) und einer schlechteren Austauschercharge (oberer Teil; Versuchsreihe V).

Bestandteile der Fraktionen 1a-9c/d siehe Tab. I.

Unter den Chromatogrammen sind die Umsetzungen mit verschiedenen Elutionsmitteln angegeben.

Tabelle I: Lokalisation der Nucleotide in der Ionenaustauschchromatographie

Fraktionen	Inhalt
1a/b	Basen, basische Phosphorsäurederivate, Nicotinamid
2a/b	Cytidinverbindungen
2c	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD)
2x/y	Uridin und Harnsäure
2d	Adenosin-5'-Monophosphat (AMP)
2e/f	Adenosin-3'-5'-Monophosphat
3a	Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat
3b	Guanosin-5'-Monophosphat (GMP)
3c	Adenosin-5'-Monophosphat-Ribose
4a	Cytidin-5'-Diphosphat u. Inosin-5'-Monophosphat
4b	Uridin-5'-Monophosphat (UMP)
5	Adenosin-5'-Diphosphat (ADP)
6a/b	Flavin-Adenin-Dinucleotid und geringe Anteile aus Adenosinverbindungen
7a	Uridin-5'-Diphosphat- Acetylglucosamin (UDP-A)
7b	Uridin-5'-Diphosphat-Glucose (UDP-G)
7c	Guanosin-5'-Diphosphat (GDP)
8a	Cytidin-5'-Triphosphat
8b	Adenosin-5'-Triphosphat (ATP)
9a	Uridin-5'-Triphosphat (UTP)
9b	Guanosin-5'-Triphosphat (GTP)
9c/d	Oligonucleotide

sind in den Versuchen I - V (s. Abb. 2 oben) die Banden 2e/f und 3a; 4a und 4b; 6a, 6b und 6c sowie 7a und 7b meist nicht voneinander getrennt worden.

Folgende Elutionsmittel wurden in steigender Konzentration nacheinander verwandt:

1 n HCOOH

4 n HCOOH

0,2 n NH_4COOH in 4 n HCOOH

0,4 n NH_4COOH in 4 n HCOOH

Vorratsgefäß: 2n NH_4COOH

Mischer: 1n NH_4COOH

ohne Mischer: 1n NH_4COOH in 4 n HCOOH

Mittels eines LKB-Ultraviolett-Durchfluß-photometers und eines LKB-Zweifarben-Punktschreibers konnten die einzelnen Umsetzpunkte kontrolliert werden.

VI. Berechnungen

Zur Berechnung der Nucleotidmenge in den einzelnen Fraktionen liegt folgende Formel vor:

$$X = \frac{V \cdot E \cdot F}{D \cdot \varepsilon_{260} \cdot 10^{-3}}$$

X = die Menge des jeweiligen Nucleotids in µMol/g Trockenrückstand

V = Volumen der Fraktion in ml

E = die Durchschnittsextinktion der Fraktion gemessen bei einer Wellenlänge von 260 mµ (Spaltbreite ca. 0,15 mm)

F = der errechnete Verlustfaktor

D = das Gewicht des Trockenrückstandes in g

ε_{260} = die spezifische Extinktion des Nucleotids bei 260 mµ (Extinktionskoeffizient)

Wie bei den früheren Arbeiten diente auch hier der Trockenrückstand als Bezugswert. Zur Berechnung des Verlustfaktors soll ein Beispiel aus Versuchsreihe XIII angeführt werden:

Frischgewicht	16,36 g
Feuchtrückstand	11,61 g
Gewonnener Extrakt	54,75 ml
Gesamthomogenat	66,36 g
Trockenrückstand	3,81 g
Gesamtflüssigkeitsvolumen	62,55 ml
Flüssigkeit im Feuchtrückstand	7,8 ml
Verlust (7,8 von 62,55)	12,5 %

Es werden also rund 87,5 % des sauren Extraktes neutralisiert. Hierzu benötigt man ca 5 ml 10 n KOH, so daß sich der neutralisierte Extrakt auf 59,75 ml erhöht. Von diesen verbleiben 0,8 ml im Perchloratrückstand (KANIG, 1963) =

1,34 % (0,8 ml von 59,75 ml). 1,34 % von 87,5 % sind rund 1,2 %, die von 87,5 abgezogen werden. Die Berechnung ergibt also im vorliegenden Beispiel, daß nur rund 86,3 % des Perchlorsäure-Extraktes zur Bestimmung gelangen. Die erhaltenen Werte mußten also mit einem Faktor 1,16 multipliziert werden.

C. VERSUCHSERGEBNISSE

Wie aus Tabelle II zu ersehen ist, setzt sich die Arbeit aus 14 Versuchsreihen zusammen, wobei in den ersten 5 Reihen jeweils 3 Versuche parallel liefen und in den übrigen 9 jeweils 4. Im ganzen wurden also 51 Ionenaustausch-Chromatographien durchgeführt. Um für eine spätere Auswertung einen möglichst sicheren Vergleichsmaßstab zu besitzen, lief in jeder Reihe ein Kontrollversuch mit. In den fünf ersten Reihen handelt es sich hierbei um nur bestrahlte Tiere, d.h. ihnen wurden keine Substanzen vor der Röntgenbestrahlung injiziert. In den übrigen 9 Reihen handelt es sich um Tiere, die vor dem Töten keiner experimentellen Manipulation unterzogen worden waren (sogenannte Leerversuche).

Tabelle III a-c zeigt die in den einzelnen Versuchsreihen erhaltenen Nucleotidwerte. Da in den ersten 5 Reihen zum einen ältere Tiere benutzt worden waren, und da zum anderen eine offenbar abweichende Austauschercharge etwas andere Trennergebnisse erbracht hatte, wurden die Mittelwerte aus Tabelle IV a,b in den einzelnen Versuchsreihen in Prozent zu den Kontroll- bzw. Leerwerten umgerechnet (Tab. V). Die erhaltenen Prozentzahlen

konnten nun innerhalb der verschiedenen Versuchsgruppen (Pentetrazol, Nikethamid, Harman, Harmalol, Pentobarbital, nur bestrahlte Tiere) gemittelt werden. Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen werden besonders deutlich, wenn man alle Prozentwerte mit denen der nur bestrahlten Tiere vergleicht (Tab. VI).

KANIG und KORANSKY (1961) fanden unter den gleichen Versuchsbedingungen bereits statistisch signifikante Unterschiede, wenn sich die ATP-Werte sowie die Summen von ATP, ADP und AMP nur um 9-10 % unterschieden. Wir sehen daher auch in unsern Versuchen Differenzen zwischen den einzelnen Versuchsgruppen nur als relevant an, wenn sie 10 % und mehr betragen. Dies gilt insbesondere für die immer gut abtrennbare NAD- und ATP-Fraktion sowie für die Summe AMP, ADP und ATP und die Gesamtsumme der Nucleotide.

Die Abweichungen in den Summen der Adenosinphosphate schwanken im Vergleich zu denen der nur bestrahlten Tieren lediglich zwischen - 2 und + 4 % und die Abweichungen der Summen der Gesamtnucleotide zwischen - 4 und + 7 %, d.h. es bestehen praktisch keine Unterschiede. Ob

Tabelle II: Aufstellung und Reihenfolge der durchgeführten Versuche.

Versuchsaufstellung:

3 Pentetrazol, 3 Nikethamid, 4 Harman, 11 nur bestrahlt, 16 Leerversuche, 4 Pentobarbital (48 h), 3 Pentobarbital (12 h), 3 Pentobarbital (96 h)

Reihenfolge:		Bemerkungen:	
I	2 Pentetrazol 1 n.b.	9 Tiere pro Versuch (sonst immer 10)	2,5 ml 0,5 n $HClO_4$/g Frischgewicht
II	2 Nikethamid 1 n.b.		
III	1 Pentetrazol 1 Nikethamid 1 n.b.	schlechtere Austauscher-Charge; ältere Tiere	
IV	2 Harman 1 n.b.		
V	2 Harman 1 n.b.		
VI	2 Harmalol 1 n.b. 1 Leerversuch		
VII	2 Harmalol 1 n.b. 1 Leerversuch		
VIII	2 n.b. 2 Leerversuche		
IX	2 n.b. 2 Leerversuche	gute Austauscher-Charge	5 ml 0,5 n $HClO_4$ pro Hirn
X	4 Leerversuche		
XI	2 Pentobarbital (48 h) 2 Leerversuche		
XII	2 Pentobarbital (48 h) 2 Leerversuche		
XIII	3 Pentobarbital (12 h) 1 Leerversuch		
XIV	3 Pentobarbital (96 h) 1 Leerversuch		

n.b. = nur bestrahlt ohne Pharmaka

Leerversuch = unbestrahlt ohne Pharmaka

Tabelle III a: Werte der Hauptnucleotide in µMol/g Trockenrückstand der einzelnen Versuchsgruppen (s.Tab.II).

	I			II		III			IV			V			VI		
	Pentetrazol	Pentetrazol	nur bestrahlt	Nikethamid	nur bestrahlt	Pentetrazol	Nikethamid	nur bestrahlt	Harman	Harman	nur bestrahlt	Harman	Harman	nur bestrahlt	Leerversuch	Harmalol	Harmalol
2c NAD	0,71	0,77	0,85	0,77	0,99	0,37	0,87	0,89	0,90	0,89	0,85	1,33	1,22	1,10	1,13	1,10	1,07
2d AMP	2,08	1,90	1,87	2,25	1,96	3,40	2,56	2,85	2,21	2,69	2,31	2,42	2,70	2,49	3,40	2,38	2,85
5 ADP	2,91	2,44	2,74	2,89	2,54	2,82	2,83	3,11	2,86	2,66	2,67	2,89	2,77	2,64	2,34	2,72	2,76
8b ATP	3,81	3,59	4,06	4,33	3,68	4,05	3,30	4,33	3,44	3,31	3,49	4,24	3,48	3,69	2,47	3,03	2,80
Summe	8,80	7,93	8,67	9,47	8,18	10,27	8,69	10,29	8,51	8,66	8,47	9,55	8,95	8,82	8,21	8,13	8,41
3b GMP	0,21	0,21	0,22	0,30	0,26	0,53	0,46	0,41	0,34	0,33	0,25	0,37	0,39	0,38	0,41	0,42	0,42
7c GDP	0,68	0,68	0,78	0,86	0,70	1,00	1,12	1,05	0,75	0,72	0,76	0,82	0,72	0,84	0,80	0,76	0,79
9b GTP	0,58	0,52	0,66	0,83	0,58	1,00	1,00	0,91	0,81	0,93	0,88	0,83	0,67	0,68	0,50	0,72	0,63
Summe	1,47	1,41	1,66	1,99	1,54	2,53	2,58	2,37	1,90	1,98	1,89	2,02	1,78	1,90	1,71	1,90	1,84
4b UMP															0,34	0,27	0,32
7a UDP-A															0,26	0,25	0,25
7b UDP-G				← nicht getrennt →											0,29	0,32	0,30
9a UTP															0,19	0,27	0,25
Summe															1,08	1,11	1,12
Gesamt-summe	14,59	14,08	15,32	15,44	13,81	16,66	14,86	16,69	13,36	13,26	13,20	15,93	14,87	15,20	13,91	13,94	14,07

In Versuchsreihe II fallen alle Ergebnisse der 2. Säule mit Nikethamid zu niedrig aus, ebenso die Säule "nur bestrahlt" in Versuch VI und eine Säule "Leerversuch" in Versuch XII. Diese Zahlen werden daher hier nicht berücksichtigt.

Tabelle III b: Werte der Hauptnucleotide in µMol/g Trockenrückstand der einzelnen Versuchsgruppen (s.Tab.II).

	VII				VIII				IX				X			
	Leerversuch	nur bestrahlt	Harmalol	Harmalol	nur bestrahlt	nur bestrahlt	Leerversuch	Leerversuch	Leerversuch	Leerversuch	nur bestrahlt	nur bestrahlt	Leerversuch	Leerversuch	Leerversuch	Leerversuch
2c NAD	0,98	0,84	0,87	0,88	1,13	1,25	1,37	1,35	0,90	0,90	0,65	0,65	1,00	1,02	1,15	0,97
2d AMP	3,19	2,62	2,63	2,66	Techn. Versagen			2,69	2,74	2,41	2,46	2,45	2,73	2,60	1,93	2,60
5 ADP	2,80	2,81	2,96	2,74	2,44	2,77	2,99	2,46	2,92	3,32	3,12	2,67	3,35	3,32	3,71	3,20
8b ATP	3,03	3,59	3,62	3,39	4,55	4,07	3,87	2,71	2,91	3,70	3,21	3,49	3,05	3,43	3,56	3,06
Summe	9,02	9,02	9,21	8,79				7,86	8,57	9,43	8,78	8,61	9,13	9,35	9,20	8,86
3b GMP	0,49	0,41	0,40	0,37	0,31	0,34	0,31	0,29	0,30	0,36	0,46	0,30	0,36	0,43	0,21	0,26
7c GDP	1,00	0,88	0,93	0,89	0,84	0,77	0,89	0,80	0,78	0,85	0,86	0,70	0,83	0,73	0,87	0,97
9b GTP	0,65	0,82	0,83	0,77	0,79	0,83	0,77	0,83	0,61	0,65	0,63	0,63	0,47	0,41	0,56	0,49
Summe	2,14	2,11	2,16	2,03	1,94	1,94	1,97	1,92	1,69	1,86	1,95	1,63	1,66	1,57	1,64	1,72
4b UMP	0,37	0,30	0,33	0,29	0,22	0,28	0,36	0,27	0,26	0,22	0,23	0,25	0,15	0,31	0,11	0,25
7a UDP-A	0,30	0,26	0,25	0,28	0,26	0,25	0,30	0,24	0,26	0,34	0,33	0,25	0,28	0,33	0,35	0,36
7b UDP-G	0,34	0,31	0,39	0,34	0,22	0,25	0,31	0,28	0,26	0,22	0,25	0,32	0,28	0,28	0,22	0,29
9a UTP	0,31	0,31	0,29	0,31	0,31	0,37	0,34	0,29	0,26	0,30	0,22	0,30	0,23	0,38	0,32	0,39
Summe	1,32	1,18	1,26	1,22	1,06	1,15	1,31	1,08	1,04	1,08	1,03	1,12	0,94	1,30	1,00	1,29
Gesamt-summe	15,57	14,64	15,03	14,66				13,69	14,16	15,86	14,72	14,17	14,82	15,74	14,98	15,00

Tabelle III c: Werte der Hauptnucleotide in µMol/g Trockenrückstand der einzelnen Versuchsgruppen (s.Tab.II).

	XI				XII			XIII				XIV			
	Leerversuch	Leerversuch	Pentobarbital (48 h)	Pentobarbital (48 h)	Leerversuch	Pentobarbital (48 h)	Pentobarbital (48 h)	Leerversuch	Pentobarbital (12 h)	Pentobarbital (12 h)	Pentobarbital (12 h)	Leerversuch	Pentobarbital (96 h)	Pentobarbital (96 h)	Pentobarbital (96 h)
2c NAD	1,14	1,14	1,03	1,03	1,17	1,01	1,01	1,25	1,01	1,20	1,19	1,34	1,24	1,22	1,17
2d AMP	3,29	2,80	3,26	3,29	2,65	2,45	3,00	2,65	2,39	2,54	2,76	2,25	2,25	2,24	2,15
5 ADP	3,48	3,27	3,16	3,52	3,04	2,94	3,00	3,77	3,95	3,77	3,70	3,40	3,39	3,67	3,09
8b ATP	3,75	3,79	3,92	4,03	4,31	4,62	3,86	4,61	4,51	4,83	4,65	4,34	4,19	3,84	3,93
Summe	10,53	9,86	10,34	10,84	10,00	10,01	9,86	11,03	10,85	11,14	11,11	9,99	9,83	9,75	9,17
3b GMP	0,38	0,37	0,28	0,31	0,29	0,24	0,38	0,21	0,27	0,29	0,22	0,29	0,28	0,25	0,23
7c GDP	0,99	0,99	1,03	1,01	0,81	0,93	0,95	1,20	1,09	0,93	1,17	1,09	0,96	1,03	0,90
9b GTP	0,88	0,98	1,02	0,99	0,73	0,61	0,62	0,98	0,85	0,83	0,99	0,83	0,88	0,81	0,90
Summe	2,25	2,34	2,33	2,31	1,83	1,78	1,95	2,39	2,21	2,05	2,38	2,21	2,12	2,09	2,03
4b UMP	0,33	0,27	0,39	0,40	0,23	0,24	0,24	0,18	0,21	0,19	0,17	0,30	0,27	0,30	0,25
7a UDP-A	0,32	0,33	0,30	0,33	0,27	0,26	0,26	0,31	0,39	0,43	0,35	0,27	0,30	0,28	0,25
7b UDP-G	0,33	0,33	0,35	0,35	0,25	0,30	0,35	0,32	0,36	0,29	0,32	0,35	0,31	0,32	0,28
9a UTP	0,32	0,31	0,34	0,52	0,44	0,48	0,47	0,30	0,29	0,35	0,46	0,43	0,35	0,30	0,35
Summe	1,30	1,24	1,38	1,60	1,19	1,28	1,32	1,11	1,25	1,26	1,30	1,35	1,23	1,20	1,13
Gesamt-summe	17,92	17,81	17,82	18,83	16,24	16,22	16,49	18,26	17,62	17,89	18,54	16,71	16,31	16,36	15,26

Tabelle IV a: Mittelwerte der Hauptnucleotide in µMol/g Trockenrückstand der einzelnen Versuchsreihen.

	I		II		III			IV		V		VI		VII		
	2 Pentetrazol	1 nur bestrahlt	1 Nikethamid	1 nur bestrahlt	1 Pentetrazol	1 Nikethamid	1 nur bestrahlt	2 Harman	1 nur bestrahlt	2 Harman	1 nur bestrahlt	1 Leerversuch	2 Harmalol	1 Leerversuch	1 nur bestrahlt	2 Harmalol
2c NAD	0,74	0,85	0,77	0,99	0,87	0,87	0,89	0,90	0,85	1,28	1,10	1,13	1,09	0,98	0,84	0,88
2d AMP	1,99	1,87	2,25	1,96	3,40	2,56	2,85	2,45	2,31	2,56	2,49	3,40	2,62	2,19	2,62	2,65
5 ADP	2,68	2,74	2,89	2,54	2,82	2,83	3,11	2,76	2,67	2,83	2,64	2,39	2,74	2,80	2,81	2,85
8b ATP	3,70	4,06	4,33	3,68	4,05	3,30	4,33	3,38	3,39	3,83	3,69	2,47	2,91	3,03	3,59	3,50
Summe	8,37	8,67	9,47	8,18	10,24	8,69	10,29	8,59	8,47	9,22	8,82	8,21	8,27	9,02	9,02	9,00
3b GMP	0,21	0,22	0,30	0,26	0,53	0,46	0,41	0,34	0,25	0,38	0,38	0,41	0,42	0,49	0,41	0,39
7c GDP	0,68	0,78	0,86	0,70	1,00	1,12	1,05	0,73	0,76	0,77	0,84	0,80	0,78	1,00	0,88	0,91
9b GTP	0,55	0,66	0,83	0,58	1,00	1,00	0,91	0,87	0,88	0,75	0,68	0,50	0,67	0,65	0,82	0,80
Summe	1,44	1,66	1,99	1,54	2,53	2,58	2,37	1,94	1,89	1,90	1,90	1,71	1,87	2,14	2,11	2,00
4b UMP												0,34	0,30	0,37	0,30	0,31
7a UDP-A												0,26	0,25	0,30	0,26	0,27
7b UDP-G												0,29	0,31	0,34	0,31	0,36
9a UTP												0,19	0,26	0,31	0,31	0,30
Summe												1,08	1,12	1,32	1,18	1,24
Gesamt-summe	14,37	15,32	15,44	13,81	16,66	14,86	16,69	13,31	13,20	15,40	15,20	13,91	14,01	15,57	14,61	14,85

Tabelle IV b: Mittelwerte der Hauptnucleotide in µMol/g Trockenrückstand der einzelnen Versuchsreihen.

	VIII		IX		X	XI		XII		XIII		XIV	
	2 nur bestrahlt	2 Leerversuche	2 Leerversuche	2 nur bestrahlt	4 Leerversuche	2 Leerversuche	2 Pentobarbital (48 h)	1 Leerversuch	2 Pentobarbital (48 h)	1 Leerversuch	3 Pentobarbital (12 h)	1 Leerversuch	3 Pentobarbital (96 h)
2c NAD	1,19	1,36	0,90	0,65	1,04	1,14	1,03	1,17	1,01	1,25	1,13	1,34	1,21
2c AMP			2,58	2,46	2,47	3,05	3,28	2,65	2,73	2,65	2,56	2,25	2,21
5 ADP	2,61	2,73	3,12	3,29	3,40	3,37	3,34	3,04	2,97	3,77	3,81	3,40	3,38
8b ATP	4,31	3,29	3,30	3,35	3,28	3,77	3,97	4,31	4,24	4,61	4,66	4,34	3,99
Summe			9,00	8,70	9,14	10,19	10,59	10,00	9,94	11,03	11,03	9,99	9,58
3b GMP	0,33	0,30	0,33	0,38	0,32	0,38	0,30	0,29	0,31	0,21	0,26	0,29	0,25
7c GDP	0,80	0,85	0,82	0,78	0,85	0,99	1,02	0,81	0,94	1,20	1,06	1,09	0,96
9b GTP	0,81	0,80	0,63	0,63	0,48	0,93	1,00	0,73	0,62	0,98	0,89	0,83	0,86
Summe	1,94	1,95	1,78	1,79	1,65	2,30	2,32	1,83	1,87	2,39	2,21	2,21	2,08
4b UMP	0,25	0,32	0,24	0,24	0,21	0,30	0,40	0,23	0,24	0,18	0,19	0,30	0,27
7a UDP-A	0,26	0,27	0,30	0,29	0,33	0,33	0,31	0,27	0,26	0,31	0,39	0,27	0,28
7b UDP-G	0,23	0,29	0,24	0,29	0,27	0,33	0,35	0,25	0,33	0,32	0,32	0,35	0,30
9a UTP	0,37	0,32	0,28	0,26	0,33	0,31	0,43	0,44	0,47	0,30	0,37	0,43	0,33
Summe	1,11	1,20	1,06	1,08	1,13	1,27	1,49	1,19	1,30	1,11	1,27	1,35	1,19
Gesamt-summe			15,01	14,45	15,14	17,55	18,33	16,24	16,36	18,26	18,02	16,71	15,98

Tabelle V: Prozentualer Vergleich der Hauptnucleotide in den einzelnen Versuchsreihen mit den Kontrollversuchen (= 100%); I-V gegen nur bestrahlte (n.b.) Tiere, VI-XIV gegen Leerversuche.

	I	II	III		IV	V	VI	VII		VIII	IX	XI	XII	XIII	XIV
	2 Pentetrazol	1 Nikethamid	1 Pentetrazol	1 Nikethamid	2 Harman	2 Harman	2 Harmalol	2 Harmalol	1 nur bestrahlt	2 nur bestrahlt	2 nur bestrahlt	2 Pentobarbital (48 h)	2 Pentobarbital (48 h)	3 Pentobarbital (12 h)	3 Pentobarbital (96 h)
2c NAD	87	78	98	98	106	116	96	90	86	88	72	90	86	90	90
2d AMP	106	115	119	90	106	103	77	83	82		95	108	103	97	98
5 ADP	97	114	91	91	103	107	115	102	100	96	105	99	98	101	99
8b ATP	91	118	94	76	97	104	118	116	118	131	102	105	98	101	92
Summe	97	116	100	84	101	105	101	100	100		97	104	99	100	96
3b GMP	95	115	129	112	136	100	102	80	84	110	115	79	107	124	86
7c GDP	87	123	95	107	96	92	98	91	88	94	95	103	116	88	88
9b CTP	83	143	110	110	99	110	134	123	126	101	100	108	85	91	104
Summe	87	129	107	109	103	100	109	93	99	99	100	101	102	92	94
4b UMP							88	84	81	78	100	133	104	106	90
7a UDP-A							96	90	87	96	97	94	96	126	104
7b UDP-G							107	106	91	79	121	106	132	100	86
9a UTP							137	97	100	84	93	139	107	123	77
Summe							104	94	98	93	102	117	109	114	88
Gesamt-summe	94	112	100	89	101	105	101	95	94		96	104	101	99	96

Tabelle VI: Mittelwerte der Prozentzahlen aus Tab.V und Abweichungen zu den Werten der Versuche mit nur bestrahlten (n.b.) Tieren.

	Pentetrazol	Nikethamid	Harman	Leerversuche	Harmalol	nur bestrahlt	Pentobarbital (48 h)	Pentobarbital (12 h)	Pentobarbital (96 h)
NAD	91	88	111	100	93	81	88	90	90
Differenz zu n.b.	- 9	-12	+11	+19	+12	0	+ 7	+ 9	+ 9
ATP	92	97	101	100	117	107	102	101	92
Differenz zu n.b.	- 8	- 3	+ 1	- 7	+10	0	- 5	- 6	-15
AMP,ADP,ATP	98	100	103	100	101	98	102	100	96
Differenz zu n.b.	- 2	0	+ 3	+ 2	+ 3	0	+ 4	+ 2	- 2
GMP,GDP,GTP	94	119	102	100	101	99	102	92	94
Differenz zu n.b.	- 6	+19	+ 2	+ 1	+ 2	0	+ 3	- 7	- 5
UMP,UDP-A u.G,UTP				100	99	91	113	114	88
Differenz zu n.b.				+ 9	+ 8	0	+22	+23	- 3
Gesamtsumme	96	101	101	100	98	95	102	99	96
Differenz zu n.b.	- 4	+ 1	+ 1	+ 5	+ 3	0	+ 7	+ 4	+ 1

Die Werte der ersten drei Spalten wurden im Vergleich zu den nur bestrahlten (n.b.) Kontrollversuchen gewonnen.

Die Werte der letzten sechs Spalten wurden im Vergleich zu den Leerversuchen gewonnen.

die Erhöhung der Summe der Guanosinverbindungen bei den Niketha mid-Versuchen um 19 % und die Erhöhung der Uridinverbindungen um 22 und 23 % bei den Pentobarbital-Versuchen mit einer Manifestationszeit von 12 und 48 h als relevant anzusehen sind, möchten wir noch nicht entscheiden, da diese Verbindungen in wesentlich geringerer Konzentration als die Adenosinverbindungen vorkommen und bei einzelnen Chromatographien nicht immer gut voneinander abtrennbar waren (vergl. Abb. 2 oben). Bei den anderen Versuchsgruppen schwanken die Summen der Guanosinverbindungen nur zwischen - 7 und + 3 % und die Summen der Uridinverbindungen zwischen - 3 und + 9 %.

Eine ATP-Abnahme (- 15 %) finden wir lediglich bei den Pentobarbital-Versuchen und einer Manifestationszeit von 96 h. Unter diesen Bedingungen hat auch LEHBERGER die tiefsten ATP-Werte gefunden (- 21 %, verglichen mit den nur bestrahlten Tieren und einer Manifestationszeit von 48 h). Eine prozentuale Erhöhung der ATP-Werte um 10 % bei den Harmalol-Versuchen zeigt einen Effekt an, den auch LEHBERGER unter Harmin-Vorbehandlung gefunden hat (+ 19 % gegenüber nur bestrahlten Tieren. Bei allen andern

Versuchsgruppen betragen die prozentualen Abweichungen der ATP-Werte nur - 8 bis + 1 %.

Der deutlichste Strahleneffekt gegenüber den Leerversuchen zeigt sich bei der NAD-Fraktion in einer Abnahme von 19 % (Tab. VI). Während eine Vorbehandlung mit Pentetrazol oder Nikethamid den Effekt noch vergrößert (zusätzlich - 9 bis - 12 % gegenüber den nur bestrahlten Versuchen), wird dieser unter Pentobarbital-Vorbehandlung eher abgeschwächt (+ 7 bis + 9 % gegenüber nur bestrahlten Versuchen). Eine Vorbehandlung mit Harman oder Harmalol läßt eine Strahlenschutzwirkung erkennen, da die Prozentwerte um 11-12 % höher liegen, verglichen mit den nur bestrahlten Versuchen. Dieser Effekt entspricht den Ergebnissen von LEHBERGER (1971) mit Harmin (+ 11 % gegenüber nur bestrahlten Versuchen).

D. DISKUSSION

Im Gegensatz zu LEHBERGER (1971) konnten wir nach einer Kopfbestrahlung nicht vorbehandelter Ratten mit 3000 R während einer Manifestationszeit von 48 h keine Veränderungen in der Konzentration der Nucleotide mit Ausnahme eines NAD-Abfalls feststellen. Insbesondere fanden wir keine Abnahme im ATP-Gehalt sowie in der Summe einzelner Nucleotidgruppen und in der Summe der Gesamtnucleotide. Unsere Werte liegen bereits in den Leerversuchen mit Ausnahme des NAD tiefer als die von LEHBERGER (1971) (vergl. Tab. VII). Dies gilt insbesondere für die ATP-Werte. Auch BRÜSTLE (1969) hat unter den gleichen Versuchsbedingungen bei seinen Kontrollwerten nicht so hohe ATP-Werte wie LEHBERGER (1971) ermittelt. Wir nehmen daher an, daß LEHBERGER'S Leerwerte zu hoch liegen und daß dadurch die von ihm gefundenen großen Abnahmen unter der Bestrahlung zum Teil erklärt werden könnten.

Inwieweit stimmen nun unsere Befunde mit denen aus der Literatur überein? Untersuchungen über den Energiestoffwechsel des Gehirns nach Bestrahlung sind spärlich und zudem

Tabelle VII: Vergleich der Hauptnucleotide (Mittelwerte) in µMol/g Trockenrückstand von gleichartigen Versuchen aus LEHBERGER'S (1971) und der vorliegenden Arbeit.

	7 Leerversuche	1 Harmin	1 nur bestrahlt	1 Pentobarbital (48 h)	14 Leerversuche	4 Harman	4 Harmalol	4 Pentobarbital (48 h)	3 nur bestrahlt
2c NAD	1,08	0,41	0,29	0,23	1,10	1,09	0,99	1,01	0,71
2d AMP	2,88	2,75	1,92	1,56	2,71	2,51	2,64	3,01	2,51
5 ADP	3,19	3,09	1,79	1,86	3,17	2,79	2,79	3,15	3,13
8b ATP	4,85	4,81	3,24	2,98	3,48	3,61	3,21	4,01	3,43
Summe	10,92	10,65	6,95	6,40	9,36	8,91	8,64	10,17	9,07
3b GMP	0,54	0,52	0,33	0,18	0,33	0,36	0,41	0,31	0,39
7c GDP	1,29	1,55	1,03	0,98	0,91	0,75	0,84	0,98	0,81
9b GTP	0,72	0,73	0,50	0,46	0,68	0,81	0,74	0,81	0,69
Summe	2,55	2,80	1,86	1,62	1,92	1,92	1,99	2,10	1,89
4b UMP	0,56	0,54	0,36	0,25	0,26		0,31	0,32	0,26
7a UDP-A	0,65	0,67	0,39	0,33	0,30		0,26	0,29	0,28
7b UDP-G	0,66	0,66	0,37	0,35	0,29		0,33	0,34	0,30
9a UTP	0,52	0,55	0,39	0,34	0,32		0,28	0,45	0,28
Summe	2,39	2,42	1,49	1,27	1,17		1,18	1,40	1,12
Gesamtsumme	19,47	18,64	13,04	12,69	15,57	14,36	14,36	17,01	14,41
	LEHBERGER (1971)				vorliegende Arbeit				

widersprüchlich. Z.B. stieg die Sauerstoffspannung im Hirngewebe nach Kopfbestrahlung von Kaninchen mit 1000-3000 R deutlich an, was auf eine Verminderung der oxidativen Prozesse zurückgeführt wird (SNEZHKO, 1960). HALL et al. (1963) fanden hingegen in Mäusegehirnen keine Änderung der Atmung bei Strahlendosen bis zu 19 kR. Während SKVORTSOVA (1962) bei Strahlendosen von 9 kR keine Abnahme der Glykolyse feststellen konnte, fanden KAY und CHAN (1967) eine Abnahme der Glucoseoxidation.

Auch nach Bestrahlung anderer Organe, Zellen oder Mitochondrien, in denen sich der aerobe Energiestoffwechsel abspielt, wurden keine oder nur geringe Effekte beobachtet. In Lebergewebe wurde nach subletalen bis letalen Strahlendosen der Citratcyclus nicht geschädigt (WALDSCHMIDT und KÖNNECKER, 1963). Nach Strahlendosen von mehreren Tausend R wurde im Skelettmuskel der Maus keine Veränderung des ATP-Gehalts gefunden (ORD und STOCKEN, 1961). In Ehrlich-Ascites-Tumorzellen wurde die Atmung und die aerobe Glykolyse bis zu 200 kR

nicht erniedrigt, die anaerobe Glykolyse nahm hingegen mit steigender Strahlendosis immer mehr ab (STREFFER, 1969). In Mitochondrien von Leber, regenerierender Leber und mehreren transplantablen Tumoren der Maus ließ sich eine Verminderung der oxidativen Phosphorylierung, selbst nach Bestrahlung bis zu 20 kR nicht feststellen (ORD und STOCKEN, 1961). Auch die in den Mitochondrien enthaltene Succinat-Dehydrogenase zeigte selbst nach Strahlendosen von 100 kR nur eine geringfügige Aktivitätsabnahme (CLARK, 1967). Auf Befunde in einzelnen Organen nach Ganzkörperbestrahlung wird an dieser Stelle nicht eingegangen, da es sich hierbei um Sekundäreffekte handeln kann.

Aus den angeführten Ergebnissen läßt sich schließen, daß der aerobe Energiestoffwechsel, der insbesondere für die Funktion des Gehirns eine große Bedeutung besitzt, gegen eine Strahlenbelastung äusserst resistent ist. Die von anderen Autoren (Lit. s.b. LEHBERGER, 1971) gefundene Glykogenzunahme im Gehirn nach relativ niedriger Strahlenbelastung ist daher eher auf einen verminderten Abbau des Glykogens als auf eine verminderte Glucoseutilisation für den

Energiestoffwechsel, wie es z.B. von LIERSE et al. (1965) diskutiert wird, zurückzuführen.

Das Wasserstoff- bzw. Elektronen-übertragende NAD-$NADH_2$-System ist sowohl für den aeroben als auch für den anaeroben Glucoseabbau notwendig. Die von LEHBERGER (1971) unter den gleichen Versuchsbedingungen gefundene extreme Abnahme des NAD-Gehalts des Gehirns unter Röntgenbestrahlung auf 27 % haben wir zwar nicht gefunden, wohl aber eine Abnahme auf 81 %. NAD-Erniedrigungen im Gehirn nach Röntgenbestrahlung sind in der Literatur sonst nicht beschrieben. Aber in Thymocyten, Ascites-Tumorzellen und Lebergewebe sind nach Strahlendosen zwischen 750 bis 5000 R z.T. erhebliche NAD-Abnahmen festgestellt worden (CAMPAGNARI et al., 1966; MAASS et al., 1963; STREFFER, 1968). Als Ursache für diesen Abfall wird einmal ein Austritt von Nicotinamid aus den Zellen angesehen (HILZ et al., 1962), zum anderen ein verstärkter Abbau durch die NAD-Nucleosidase bei erhöhtem NAD-Umsatz (STREFFER, 1968). Nach den oben angeführten Befunden über die Strahlenresistenz der aeroben Glykolyse einerseits

und die Hemmung der anaeroben Glykolyse andererseits könnte man schließen, daß diese auf einen NAD-Abfall empfindlicher reagiert als die aerobe Glykolyse.

Das Ausmaß des NAD-Abfalls nach Strahlenbelastung konnte auch bei unseren Versuchen durch vorherige Gabe zentralwirksamer Substanzen beeinflußt werden. Bei der Pentobarbitalnarkose fanden wir den gegenteiligen Effekt wie LEHBERGER (1971), nämlich eine geringere Abnahme als bei den nicht vorbehandelten Tieren, und zwar bei Manifestationszeiten zwischen 12 und 96 h. Wenn auch eine Strahlenschutzwirkung unter Pentobarbitalnarkose umstritten ist (KOCH et al. 1967; LINDOP und ROTBLATT, 1963; MACK und FIGGE, 1952), so stimmen unsere Befunde doch mit denjenigen überein, die bei zentraler Dämpfung durch Chlorpromazin, Reserpin oder einen lytischen Cocktail (Megaphen^{R}, Atosil^{R}, Dolantin^{R}) einen Strahlenschutzeffekt ergaben (LANGENDORFF und KOCH, 1954; HECKMANN und KÜNKEL, 1960; KÜNKEL, 1959; KOCH et al., 1967).

LEHBERGER (1971) hatte bei seinen Versuchen

einen Strahlenschutzeffekt von Harmin insbesondere auf den NAD-Abfall feststellen können. Als Ursachen für diesen Effekt diskutiert er 3 Möglichkeiten: 1. die Wirkung von Harmin als Monoaminoxidase-Hemmer, 2. die Wirkung von Harmin als zentralerregende und damit stoffwechselsteigernde Substanz und 3. die chemische Struktur des Harminmoleküls.

Von Harmin und Harmalin ist bekannt, daß es sich um Monoaminoxydase (MAO)- Hemmer mit kurzer Wirkungsdauer handelt (UDENFRIEND und WEISSBACH, 1958; UDENFRIEND et al., 1958; PLETSCHER und BESENDORF, 1959). Als Folge dieses Effekts ergibt sich u.a. ein Anstieg des Serotonins im Gehirn (SOURKES und POIRIER, 1968; HASSLER und BAK, 1969). Da dieses Monoamin eine Resistenzsteigerung gegen ionisierende Strahlen bei Säugetieren bewirkt, hätte der Mechanismus des Strahlenschutzes von Harmin bereits hiermit erklärt werden können. Gegen eine solche Interpretation sprechen aber unsere Versuche mit Harman und Harmalol (s. weiter unten), von denen eine MAO-Hemmung nicht bekannt ist. Außerdem ist von Harmin und insbesondere von seinem Derivat 10-Methoxyharmalan ein Serotonin-Anta-

gonismus beschrieben worden (McISAAC et al., 1961). Auch ZETLER (1957) gibt als Antagonisten für den durch Harmin hervorzurufenden Tremor Serotonin an. Andere pharmakologische Wirkungen passen ebenfalls wenig zu einer Serotonin-freisetzung durch Harmin. Während Pharmaka, die den Serotoningehalt des Gehirns erhöhen, die Krampfschwelle heraufsetzen (BIANCHI, 1957; LITTLE und CONRAD, 1960; PROCKOP et al., 1959), zeigt Harmin den entgegengesetzten Effekt (FIEDLER, 1969; MORTILLARO et al. 1970; MORTILLARO, 1971; diese Arbeit, Kap. B, III).

Um die 2. Erklärungsmöglichkeit, eine zentrale Erregung, zu prüfen, benutzten wir 2 verschiedene Substanzen, Pentetrazol und Nikethamid, die sich sowohl gegenüber Harmin als auch untereinander chemisch (s. Abb. 1) und pharmakologisch von Harmin unterscheiden.

Pentetrazol-Dosen, die gerade unterhalb der Krampfschwelle liegen, rufen bei Ratten eine Steigerung der Motorik und Atmung hervor. Interessant im Zusammenhang mit einem möglichen Strahlenschutz ist der Befund von DIAZ (1970), der nach Verabreichung von 30 mg/kg Pentetrazol eine Verminderung der Serotonin-Abbaurate ergab.

Der Autor führt diesen Effekt auf eine geringere Bindung von Serotonin an die MAO zurück, da deren Aktivität nicht vermindert war. Hiernach hätte man von Pentetrazol eher einen Strahlenschutzeffekt erwarten können. Nach unseren Befunden ist aber das Gegenteil der Fall. Die NAD-Werte liegen, ebenso wie die nach Nikethamid-Vorbehandlung, niedriger als bei den nicht vorbehandelten Tieren.

Nikethamid ruft erst in höheren Dosen als Pentetrazol Konvulsionen hervor. Bei Dosen unterhalb der Krampfschwelle bewirkt es eine Erregung des Atemzentrums und zeigt hier eine längere Wirkungsdauer als Pentetrazol (KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1967). Untersuchungen über Veränderungen des Energie- und Monoamin-Stoffwechsels im Gehirn nach Nikethamid sind uns nicht bekannt.

Außer der bereits erwähnten stärkeren NAD-Abnahme konnten nach Vorbehandlung sowohl mit Pentetrazol als auch mit Nikethamid keine eindeutigen weiteren Veränderungen im Gehalt einzelner Nucleotide, Nucleotidgruppen oder der Gesamtsumme der Nucleotide festgestellt werden. Demnach bewirkt eine zentrale Erregung

bzw. eine Stoffwechselsteigerung keinen Strahlenschutzeffekt. LEHBERGER (1971) hatte eine solche Möglichkeit u.a. deshalb diskutiert, da der Sauerstoffdruck im Gehirn sich etwa umgekehrt proportional zur Atmungsaktivität verhält (HELLER und ELLIOTT, 1955), d.h., je höher der aerobe Stoffwechsel um so niedriger ist der O_2-Druck. Da nun ein niedriger O_2-Druck das Gewebe strahlenresistenter machen soll (CLAPP et al., 1965; ZEMAN, 1964), hätte man eine Erhöhung der Strahlenresistenz durch zentralerregende bzw. stoffwechselsteigernde Substanzen erwarten dürfen, zumal nach SHAPOT (1957) sich die Gewebsatmung im Gehirn durch Erregung stimulieren läßt.

In der Literatur wird der Effekt von erregenden bzw. stoffwechselsteigernden Substanzen auf Strahlenschäden unterschiedlich beschrieben. Während Adrenalin eine Schutzwirkung auf Nierengewebe (STECKEL, 1969) und das zentralanregende Mittel Pemolin bzw. Magnesium-Pemolin auf die Überlebenszeit von Mäusen (LE VAN und HEBORN, 1968) ausüben, soll eine Stoffwechselanregung mit Thyroxin die Strahlenwirkung erheblich verstärken (BRAUN und HORNUNG, 1966; WENDT, 1964). Unsere Befunde würden also mit

den zuletztgenannten Ergebnissen am besten übereinstimmen.

Als dritte Möglichkeit für einen Strahlenschutzeffekt muß die spezifische Struktur des Harmins angesehen werden. Um dieser Frage nachzugehen, benutzten wir die beiden Derivate Harman und Harmalol. SIGG et al. (1964) beschrieben als pharmakologische Eigenschaft von Harman eine krampferzeugende Wirkung. Nach einer Arbeit von FUENTES und LONGO (1971) besteht ein Unterschied zwischen der Wirkung von Harman und Harmin hinsichtlich der Krampfart. Harman erzeugt bei Ratten katatonische Erscheinungen, und die darauf folgenden Krämpfe sind vom klonischen Typ, wohingegen Harmin zuerst allg. Erregung, Tremor, Ataxie und dann tonische Krämpfe bewirkt. Entsprechende Unterschiede können auch im EEG festgestellt werden. Als Effekt von Harmalol berichten schon GUNN und MACKEITH (1931) eine Lähmung statt einer Krampferzeugung. FUENTES und LONGO (1971) sprechen von einem depressiven Syndrom, ebenso GUNN (1935), der diese Wirkung der Hydroxylgruppe zuschreibt, was jedoch nicht stimmen kann, da andere Substanzen wie Tetrahydroharman und 3-Methylharman die gleichen Erscheinungen hervorrufen.

Da sowohl Harman als auch Harmalol, ungefähr 10 min vor der Bestrahlung verabreicht, einen geringeren NAD-Abfall bewirkten, muß der Strahlenschutzeffekt des Harmins und seiner Derivate, der in unseren Versuchen nur in dieser und beim Harmalol auch in der ATP-Fraktion zu bestätigen war, auf die spezifische Struktur des Harman-Ringes zurückgeführt werden.

Insgesamt zeigen unsere Ergebnisse, daß auf dem bisher wenig erforschten Gebiet der biochemisch faßbaren Strahlenwirkung auf das Gehirn Befunde solange mit Zurückhaltung zu betrachten sind, bis diese durch mehrere Untersucher mit ein und derselben Methodik bestätigt worden sind. In unserem Falle können wir eine, wenn auch nicht besonders stark ausgeprägte, NAD-Abnahme und deren Hemmung durch Harmanderivate bestätigen. Für eventuelle praktische Konsequenzen wäre dem pharmakologisch am wenigsten wirksamen Harmalol der Vorzug zu geben.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse von LEHBERGER (1971), der eine Schutzwirkung des zentralerregenden Harmins gegenüber einer Röntgenbestrahlung des Rattengehirns gefunden hatte, stellen den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit dar. Diese Schutzwirkung war an einer Hemmung des strahlenbedingten Konzentrationsabfalls der freien Nucleotide erkannt worden. Als Erklärungsmöglichkeiten für diesen Effekt wurden die Monoaminoxydase(MAO)- Hemmwirkung, die stoffwechselsteigernde Fähigkeit oder die chemische Struktur des Harmins diskutiert.

Um den stoffwechselsteigernden Effekt zu prüfen, benutzten wir Pentetrazol und Nikethamid, und um den Einfluß der chemischen Struktur festzustellen, Harman und Harmalol. Von all diesen Substanzen ist eine MAO-Hemmwirkung nicht bekannt. Für unsere Versuche verwendeten wir die gleiche Methode wie LEHBERGER, nämlich die Ionenaustausch-Chromatographie. Als in mehreren Versuchsreihen die Unterschiede in den einzelnen Nucleotidfraktionen außer bei NAD nicht bestätigt werden konnten, führten wir noch Versuche mit Pentobarbital durch, da diese Substanz vor dem Bestrahlen injiziert

die größten Nucleotiddifferenzen zu den nicht bestrahlten Tieren bei LEHBERGER ergeben hatte.

In den Versuchsreihen (51 Ionenaustausch-Chromatographien von Extrakten aus 9-10 Rattengehirnen) mußten wir die Abweichungen in Prozent zu den Kontroll- bzw. Leerwerten umrechnen, um die Ergebnisse besser miteinander vergleichen zu können. Es wird gezeigt, daß nur Differenzen von 10 % und mehr als relevant anzusehen sind. Unter diesen Kriterien konnten wir in allen Versuchsreihen im Gegensatz zu LEHBERGER keine Unterschiede in den Summen der Adenosinphosphate und den Summen der Gesamtnucleotide feststellen. Wir fanden allerdings eine ATP-Abnahme von 15 % bei den Pentobarbitalversuchen und einer Manifestationszeit von 96 h gegenüber nur bestrahlten Tieren sowie eine ATP-Zunahme bei den Harmalolversuchen von 10 %.

Den deutlichsten Strahleneffekt wies die NAD-Fraktion mit einer Differenz von 19 % zwischen nur bestrahlten und unbestrahlten Tieren auf. Eine Verstärkung dieses Effekts durch Vorbehandlung mit Pentobarbital können wir allerdings nicht bestätigen. Da jedoch eine Vorbehandlung mit Pentetrazol und Nikethamid den Effekt

eher noch verstärkt, kann eine Strahlenschutzwirkung aufgrund einer Stoffwechselsteigerung ausgeschlossen werden. Eine Vorbehandlung mit Harman und Harmalol ließ durch eine Zunahme der NAD-Fraktion um 11-12 % gegenüber nur bestrahlten Tieren einen deutlichen Schutzeffekt erkennen. Da von beiden Substanzen eine MAO-Hemmung nicht bekannt ist, führen wir den Strahlenschutzeffekt aller bisher untersuchten Harmanderivate auf die spezifisch-chemische Struktur dieser Substanzen zurück. Für praktische Konsequenzen wäre dem Harmalol der Vorzug zu geben, da diese Substanz selbst in hohen Dosen die geringsten pharmakologischen Wirkungen zeigt.

F. LITERATURVERZEICHNIS

ALTMAN,K.I., G.B.GERBER, S.OKADA: Radiation Biochemistry. Volume II:Tissues and Body Fluids; Academic Press,New York/London (1970)

BIANCHI,C.: Nature 179, 202 (1957) zit.n.DIAZ 1970 s.dort

BRAUN,H., und G.HORNUNG: Die Strahlensensibilität der Ratte im Zustand der Hyperthermie. Strahlenther. 130,(1966), 407-412

BRÜSTLE,J.-F.: Der Einfluß von Pyritinol auf die freien Nucleotide des Gehirns. (1969) Inaug.Diss.Med.Fakultät der Universität d. Saarlandes 1969

CAMPAGNARI,F., J.F.WHITFIELD, and U.BERTAZZONI: The effect of x-irradiation on the nicotinamide adenine dinucleotides (NAD-NADH) content of rat thymocytes. (Serv.Biol., CCR Euratom, Ispara) Ex.Cell Res.42,(1966), 646-656

CLAPP,P. K.K.N.CHARYULU, M.S.TAYATO, E.B.TYREE, J.J.NICKSON, and W.LAWRENCE jr.: Regional oxygenation and therapeutic response to irradiation. An experimental study. Cancer (Phila.) 18, (1965), 927-936

CLARK,J.B.: European J. Biochem. 2, 19 (1967) zit.n.STREFFER 1969, s.dort

DIAZ,P.M.: Pentylenetetrazol and Ethamivan on brain serotonin metabolism. Life Sciences Vol. 9 PartI, pp. 831-840 (1970)

ELLIOTT,K.A.C., and Brain tissue respiration and glycolyses. In:ELLIOTT,K.A.C., I.H. PAGE and J.H.QUASTEL (Eds.):Neurochemistry; Charles C.Thomas Publ., Springfield/III. 1962, pp. 177-211

FIEDLER,A.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkungsweise von B-Vitaminen auf die Vergiftung mit psychotomimetischen Substanzen. Inaug.Diss.Med.Fakultät der Universität des Saarlandes 1969

FUENTES,J.A., and V.G.LONGO: An investigation on the central effects of harmine, harmaline and related β-carbolines. Neuropharmacology, 10, 15-23 (1971)

GUNN,J.A.: Relations between chemical constitution, pharmacological actions and therapeutic uses, in the harmine group of alkaloids. Archs int.Pharmacodyn.Ther. 50, 379-396 (1935)

GUNN,J.A., and R.C.MACKEITH: The pharmacological actions of harmol. J.Pharm.Pharmac. 4, 33-51 (1931)

HALL,J.C., A.L.GOLDSTEIN,u. B.P.SONNENBLICK: Recovery of oxidative phosphoylation in rat liver mitochondria after whole body irradiation. J.Biol.Chem.238, 1137-1140 (1963)

HASSLER,R., I.J.BAK: Unbalanced ratios of striatal dopamine and serotonin after experimental interruption of strionigral connections in rat. in:Third Symposion on Parkinson's Disease,pp.29-36.Edinburgh:Livingstone 1969

HECKMANN,U., H.A.KÜNKEL: Bone marrow and organic changes in irradiated loirs. Strahlenther. 112, (1960), 92-104

HELLER,I.H., and K.A.C.ELLIOTT: Canad.J.Biochem.physiol. 33, 395 (1955) zit.n. ELLIOTT and WOLFE 1962, s. dort

HILZ,H., B.HUBMANN, M.OLDEKOP, M.SCHOLZ, M.v.GOSSLER: Die Wirkung von Röntgenstrahlen und zytostatischen Verbindungen auf DPN-Gehalt und DNS-Synthese in Ascitestumorzellen. Biochem.Z. 336, (1962) No.I, 62-76

HURLBERT,R.B., H.SCHMITZ, A.F.BRUMM, and V.R.POTTER: Nucleotide metabolism. II. J.biol.Chem. 209, 23-39 (1954)

KANIG,K.: Der Einfluß zentral wirksamer Substanzen auf den Nucleotidstoffwechsel des Gehirns. Habil.-schrift d.Hoh.Med.Fakultät d.Freien Universität Berlin 1963

KANIG,K., u. W.KORANSKY: Zur Identifizierung und Bestimmung der freien Nucleotide des Gehirns. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp. Path.Pharmak. 241, 484-506 (1961)

KAY,R.E. and H.CHAN: Effect of X-irradiation on glucose metabolism in rat cerebral cortex slices. J.Neurochem.14, 401-403 (1967)

KOCH,R., I.SEITER, u. H.MÖNIG: Untersuchungen über einen biolog. Strahlenschutz. 79 Mitteilung: Wirkung von Reserpin, Narkotika und Körpertemperatur auf die strahlenbedingte Beeinträchtigung der Radioeisenutilisation. Strahlenther. 133, (1967), 296-306

KORANSKY,W.: Trennung und Bestimmung der Nucleotide des Gehirns. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp. Path.Pharmak. 234,(1958), 45-65

KÜNKEL,H.A.: Naturwissensch. 46, (1959), 627 zit.n. MAASS,H.: Über den Wirkungsmechanismus von Röntgenstrahlen und zytostatischen Substanzen in Tumorzellen. Zbl.Gynäkolog. 85,(1963), 209-216

KUSCHINSKY,G. und H.LÜLLMANN: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Georg Thieme Verlag-Stuttgart 1967

LANGENDORFF,H., u. R.KOCH: Untersuchungen über einen biol. Strahlenschutz; zur Wirkung von SH-Blockern auf die Strahlenempfindlichkeit. Strahlenther. 95, (1954) 535-541

LEHBERGER,F.-J.: Der Nucleotidgehalt des Rattengehirns nach Röntgenbestrahlung unter verschiedenen Bedingungen. Inaug.Diss.Med.Fakultät d. Universität d. Saarlandes 1971

LE VAN,H., u. D.L.HEBRON: Radioprotective effect of magnesium pemoline: a comparison with pemolin and dextroamphetamine. J.Pharmac.Sci. 57, 1033-1034 (1968)

LIERSE,W., K.GRITZ und H.FRANKE: Histochem. Nachweis von Glykogen und Mucopolysacchariden im Gehirn des Meerschweinchens nach Röntgenbestrahlung. Fortschr.Röntgenstr.Bd. 103,Hft 5, (1965) S. 612-618

LINDOP,P.J., and J.ROTBLATT: Dependence of Radiation-Induced Life-Shorting on Dose-Rate and Anaesthetic. (1963), 314-317

LITTLE,M.J.,and E.CONRAD: J.Pharmacol.Expl.Therap. 129, 454 (1960) zit.n.DIAZ 1970 s.dort

MAASS,H., W.SCHMACK, u. S.OPOKU: Z.Krebsforsch. 65, 261 (1963) zit.n.STREFFER 1969, s.dort

MACK,H.P., and F.H.J.FIGGE: Sodium pentobarbital anaesthesia and mortality from X-radiation in C_{57} black mice. Science 115, (1952), 547-548

McISAAC,W.M., P.A.KHAIRALLAH, I.H.PAGE: 10-Methoxyharmalan, a Potent Serotonin Antagonist Which Affects Conditioned Behavior. Science, September 8, 1961, Vol. 134, No. 3480, pages 674-675

MORTILLARO,M.: Der Einfluß von Harmin auf die bioelektrische Aktivität der "cerveau isole"-Präparation der Ratte. Arch.Psychiat.Nervenkr. 214, 278-290 (1971)

MORTILLARO,M., K.KANIG, und W.EMSER: Der Einfluß von Harmin auf die bioelektrische Aktivität des Rattengehirns. Arch.Psychiat.Nervenkr. 213, 327-344 (1970)

ORD,M.G., and L.A.STOCKEN: in:ERRERA,M.,and A.FORSSBERG (Ed.) Mechanisms in radiobiology, Vol 1 p.259; Academic Press,New York/ London, 1961 zit.n.STREFFER 1969, s.dort

PLETSCHER,A., H.BESENDORF: Antagonism between harmaline and longacting MAO-inhibitors concerning the effect on 5-hydroxytryptamine and norepinephrine metabolism of the brain. Experientia(Basel) 15, 25-26 (1959)

PROCKOP,D.J., P.A.SHORE,and B.B.BRODIE: Ann.N.Y. Acad.Sci. 80, 643 (1959) zit.n.DIAZ s.dort

SIGG,E.B., L.GYERMEK, R.T.HILL, and H.YEN: Neuropharmacology of some harmine derivates. Archs int. Pharmacodyn. Ther. 149, 164-180 (1964)

SHAPOT,V.S.: Brain metabolism in relation to the functional state of the central nervous system. In: Richter,D.(Ed.):Metabolism of the nervous system; Pergamon Press, London 1957, pp. 257-262

SKVORTSOVA,R.I.: Radiobiologiya 2, 189 (1962) zit.n. ALTMAN et al. 1970, s.dort

SNEZHKO,A.D.: zit.n. LIVSHITS.N.N.: Physiological effects of nuclear radiations on the central nervous system. In: TOBIAS,C.A., and J.H.LAWRENCE (Eds.): Advances in biological and medical physics; Academic Press, New York 1960, pp. 225-226

SOURKES,T.L., L.J.POIRIER: Serotonin and Dopamine in the extrapyramidal system. Advanc.Pharmacol.6A, 335-346(1968)

STECKEL,R.J.: Adrenalin-Infusionen schützten Nierengewebe vor Strahlenschäden. (Mitteil. auf 69. Jahrestag der Am. Roentg. Ray Society, New Orleans). Med.Trib. 4 (1969), Nr.7, S.30

STREFFER,C.: J.Vitaminol. 14, 130 (1968) zit.n.STREFFER 1969, s.dort

STREFFER,C.: Strahlen-Biochemie. Springer-Verlag, Berlin 1969

UDENFRIEND,S., B.WITKOP, B.G.REDFIELD, H.WEISSBACH: Studies with reversible inhibitors of monoamine oxidase harmaline and related compounds. Biochem.Pharmacol. 1,160-165(1958)

UDENFRIEND,S., H.WEISSBACH: Turnover of 5-hydroxytryptamine (serotonin) in tissues. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 97, 748-758 (1958)

WALDSCHMIDT,M., E.KÖNNEKER: Strahlentherapie 136, 581 (1968) zit.n. STREFFER 1969, s.dort

WENDT,E.: Der Einfluß von Novocain und Methylenblau auf die indirekte Strahlenwirkung bei Hühnerembryonen. Atempraxis-10, (1964), 114-118

ZEMAN,W.: Strahlenschäden des Nervensystems. Arch.Psychiat.Nervenkr. 206 (1964), 185-198

ZETLER,G.: Der Harmin-Tremor und seine Antagonisten. Naunyn-Schmiedeberg's Arch.exp. Path.Pharmak. 231, 34-54 (1957).

LEBENSLAUF

Am 22. Februar 1948 kam ich in Neunkirchen/Saar als fünftes und letztes Kind der Eheleute Dr. med. Josef Masson und Frau Käthe Masson geb. Trapp zur Welt.

Seit Herbst 1954 besuchte ich eine kath. Volksschule und ab Ostern 1958 das Staatl. Realgymnasium in Neunkirchen. 1963 wechselte ich an das Staatl. Reginogymnasium zu Prüm/Eifel über. Im Oktober 1966 legte ich an dieser Schule das Abitur ab. Im November des gleichen Jahres begann ich das Medizinstudium an der Universität des Saarlandes und im Juli 1967 bestand ich an dieser Universität das Vorphysikum und im April 1969 das Physikum. Während des Sommersemesters 1969 führte ich mein Studium in Kiel und während des Wintersemesters 1969/70 in Wien weiter. Bis zu meinem medizinischen Staatsexamen, das ich am 22. Juni 1972 bestanden habe, studierte ich wieder an der Universität des Saarlandes.

Mit meiner Doktorarbeit habe ich im Frühjahr 1970 bei Herrn Prof. Dr. K. Kanig in der Neurochemischen Abteilung der Universitätskliniken Homburg begonnen.

Herrn Prof. Dr. K. Kanig danke ich für die Überlassung des Themas und des Arbeitsplatzes in seiner Abteilung, besonders aber für die Unterstützung meiner Arbeit, die er jederzeit - auch in kritischen Phasen - gewährte.

Desgleichen gilt mein Dank dem ehemaligen Mitarbeiter der Neurochem. Abteilung Herrn Dr. W. Österle, der mir ebenfalls oft mit seinem Rat zur Seite stand, Herrn N. Rubly für seine Hilfe bei den Versuchen, Herrn P. Johann und allen übrigen Mitarbeitern der Abteilung.

Nicht zuletzt danke ich auch Frau Zimmermann, die sich trotz vieler mütterlicher Pflichten gerne bereit gefunden hat, meine Arbeit zu schreiben.